基于Micro-CT的玉米籽粒显微表型特征研究

赵　欢[1,2,3]，王璟璐[1,2]，廖生进[1,2]，张　颖[1,2]，卢宪菊[1,2]，
郭新宇[1,2]，赵春江[1,2*]

（1. 北京农业信息技术研究中心，北京 100097；2. 国家农业信息化工程技术研究中心/数字植物北京市重点实验室，北京 100097；3. 华中农业大学 植物科学技术学院，湖北武汉 430070）

摘　要：植物显微表型主要是指植物组织、细胞和亚细胞水平的表型信息，是植物表型组学研究的重要组成部分。针对传统籽粒显微性状检测方法效率低、误差大且指标单一等问题，本研究利用Micro-CT扫描技术对5种类型11个品种玉米籽粒开展显微表型精准鉴定研究。基于对CT序列图像的处理解析，共获取籽粒、胚、胚乳、空腔、皮下空腔、胚乳空腔和胚空腔的34项显微表型指标。其中，胚乳空腔表面积、籽粒体积、胚乳体积比和胚乳空腔比表面积等4项表型指标在不同类型玉米间差异显著（P-value<0.05）。普通玉米胚乳空腔表面积和籽粒体积显著大于其它类型玉米，高油玉米胚乳空腔比表面积最大，甜玉米胚乳空腔比表面积最小，爆裂玉米胚乳体积比最大。进一步利用34项玉米籽粒表型指标开展差异分析和聚类分析，可将11个不同品种玉米分为四类，其中第一类以普通玉米为主，第二类以爆裂玉米为主，第三类是甜玉米，第四类是高油玉米。结果表明，Micro-CT扫描技术不仅可以实现玉米籽粒显微表型的精准鉴定，还可以为玉米籽粒分类、品种检测等提供技术支撑。

关键词：植物表型组学；显微表型；Micro-CT；玉米籽粒；表型鉴定

中图分类号：S126　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**202103-SA004

引用格式：赵欢，王璟璐，廖生进，张颖，卢宪菊，郭新宇，赵春江．基于Micro-CT的玉米籽粒显微表型特征研究[J]. 智慧农业(中英文), 2021, 3 (1): 16-28.

ZHAO Huan, WANG Jinglu, LIAO Shengjin, ZHANG Ying, LU Xianju, GUO Xinyu, ZHAO Chunjiang. Study on the micro-phenotype of different types of maize kernels based on Micro-CT[J]. Smart Agriculture, 2021, 3 (1): 16-28. (in Chinese with English abstract)

1　引　言

进入21世纪以来，随着新一代信息技术迅速发展，大数据时代及育种4.0[1]的到来，使得农业科学从传统的理论科学、实验科学和计算科学转向数据密集型知识发现研究的科学发展阶段，推动作物科学进入以大数据为核心的组学研究时代[2]。进入组学研究时代的农业基础研究，迫切需要借助先进的信息化手段和自动化、高通量的表型获取与解析平台，打破传统作物表型鉴

收稿日期：2021-03-11　修订日期：2021-03-26

基金项目：北京市农林科学院作物表型协同创新中心项目（KJCX201917）；国家现代农业产业技术体系专项资金（CARS-02）；北京市农林科学院创新能力建设专项（KJCX20180423）；北京市农林科学院改革与发展项目

作者简介：赵　欢（1997—），女，硕士研究生，研究方向为作物表型组学。E-mail：3321621249@qq.com。

*通讯作者：赵春江（1964—），男，研究员，中国工程院院士，研究方向为农业信息化关键技术。电话：010-51503411。E-mail：zhaocj@nercita.org.cn。

定和分析技术的限制，从组学研究高度深入挖掘“表型—基因型—环境型”内在关系研究[2]，从而更好地为植物功能基因组学和作物分子育种研究服务[3]。

植物表型已在作物育种[4]、分子生物学[5]和微生物学[6]等多个领域中得到广泛应用。Tardieu等[7]将植物表型定义为反映植物结构和组成的，或反映植物生长发育过程和结果的受基因型和环境互作产生的全部或部分可辨识特征和性状。赵春江[2]对植物表型进行更为系统、全面的总结，即植物表型是指能够反映植物细胞、组织、器官、植株和群体结构及功能的物理、生理和生化性状。植物表型涉及范围广，小到核苷酸序列，大到植株群体[8-10]，都属于植物表型的研究范畴。

显微表型是植物表型的重要组成部分，是指在植物组织、细胞和亚细胞层面上能反映植株内部和生化的特征和性状[2]，在特异基因精准鉴定和功能预测上能够发挥重要作用。但相对于器官、植株和群体水平的表型信息获取与解析，显微表型相关工作相对较少、发展相对滞后。如何全面、快速获得植物基于组织细胞的表型信息，是植物表型组学的重要研究内容。针对传统显微表型研究存在的问题，构建现代显微表型研究技术是满足当前植物表型组学尤其是显微表型精准鉴定的关键。

以X射线扫描技术等为代表的新的成像技术极大促进了植物表型组学和植物发育生物学的发展。X射线电子计算机断层扫描——Micro-CT，是一种三维断层扫描成像技术，根据植物不同组织对X射线吸收和透过率的差异，重建获得植物组织的断面或立体图像[11]。Micro-CT最初应用于医学研究，后因为其具有非侵入性、非破坏性和高分辨率等特点，近几年被逐渐引用到农业领域中并得到高度关注。在玉米研究中，基于Micro-CT扫描技术可以从显微水平对玉米表型进行鉴定和功能研究，如提取玉米根系导管三维信息研究其与植物抗旱性的关系[12]，获取茎秆维管束信息研究其与抗倒伏性的关系[13,14]等。将CT图像与图像自动处理软件相结合，可实现玉米显微表型数据的高通量获取和解析，进而与基因组数据相结合进行关联分析，挖掘显微表型相关的候选基因[11]，实现多组学间的交叉融合。

玉米籽粒作为决定玉米产量的重要“库”，内部含有淀粉、蛋白质、脂肪、水溶性多糖、维生素、矿物质以及人体必需的氨基酸等多种生理活性物质[15]。根据玉米植物学特征和生物学特性，可将玉米籽粒划分为多种类型。如根据特殊用途和利用价值，玉米籽粒可被划分为普通玉米和特种玉米，其中特种玉米包含甜玉米、糯玉米、高油玉米和爆裂玉米等多种类型[16-19]。玉米籽粒主要由胚、胚乳和种皮构成，近几年研究还发现了玉米籽粒空腔的存在。根据其分布位置不同，空腔又被详细划分胚空腔、胚乳空腔和皮下空腔[20]。传统玉米籽粒表型获取分析方法主要分为两大类，一是利用考种仪获取玉米籽粒的常规RGB图像并对其进行分析，能得到籽粒的长度、宽度、厚度和密度等外部形态特征表型参数，以及籽粒颜色纹理特征[21]。同Micro-CT相比，获得样品颜色纹理特征是常规RGB图像具备的显著优势，但其也具有不可忽略的局限性，即基于考种RGB图像无法提供籽粒内部形态特征，实现籽粒内部结构研究。二是制作籽粒石蜡切片，在光学显微镜下观察籽粒形态结构并拍摄图像，利用相关算法将多个切片图像进行叠加从而取得整个籽粒的表型特征。虽然采用“切片+显微镜”观察能获得籽粒内部形态结构特征，但是切片制备过程复杂，会出现人工和机械误差，使得获取的序列图像出现如位置偏移等诸多问题，进而导致基于切片图像的三维重构和可视化效果较差[22]。此外，籽粒切片处理后，籽粒完整性受到严重破坏，无法用于后续研究。基于X射线断层扫描技术的植物作物学组织研究方法克服了传统制片的复杂过程，实现了无损、三维的组织成像结果及三维表型的定量分析。Rousseau等[23]首次采用同步辐射X射线同轴成像显微技

术研究玉米籽粒的三维解剖结构，并通过调节图像阈值和主动轮廓算法（Active Contour Method）进行籽粒种皮、珠心、胚乳和胚等结构的分割，验证了X射线断层扫描技术能够快速获取植物组织的空间结构和分割组织内部不同的结构信息；Guelpa等[24,25]利用uCT扫描估计粉质胚乳和硬质胚乳的真实密度以及整颗籽粒的密度，结合空腔比值和孔隙率实现了玉米籽粒硬度分类和品质分级；Shao等[26]基于Micro-CT获取的玉米籽粒三维图像发现玉米籽粒密度、孔隙度等表型特征与种子饱满度分级密切相关。但是目前关于利用Micro-CT对不同类型玉米籽粒显微表型特征进行研究的报道尚不多见。

本研究以常见5种类型的11个品种玉米籽粒作为研究对象，研究基于Micro-CT的玉米籽粒显微表型精准鉴定方法，探究不同类型籽粒显微性状特征差异，以期为籽粒分类、品质检测提供依据。

2 试验材料与方法

2.1 试验材料

选取常见5种类型的11个品种玉米籽粒作为研究对象，分别为普通玉米：B73，丹599，京92，京724，MC01；爆裂玉米：830和105；糯玉米：京黄糯269和京科糯2016；甜玉米：京科甜608；高油玉米：RY732。每个品种选取3颗生长发育一致的籽粒用于后续CT扫描。

2.2 籽粒CT扫描

利用X-射线显微CT系统（美国Bruker公司，SkyScan 1172型）对玉米籽粒进行CT扫描。扫描电压为40 kV，电流为250 uA，扫描像素间隔设置为13.55 um，样品距光源和相机距光源的距离分别为259.850 mm和345.591 mm，扫描模式为2 K模式（2000×1332 px），设置系统以0.4°为间隔对样品进行180°持续扫描（如图1步骤B）。

2.3 CT图像重构

利用CT Scan NRecon（美国Bruker公司，版本1.6.9.4）软件对CT扫描原始图像进行图像重构，获得一系列籽粒横截面格式为8-bit BMP的重构虚拟图像，分辨率为2000×2000 px（如图1步骤C）。

2.4 图像分割与表型指标计算

结合ScanIP图像处理软件对CT图像进行三维分割和表型指标计算，具体步骤如下。

（1）胚结构分割。胚部的分割主要根据图像中胚和胚乳部分灰度值的不同进行区分，采用区域生长（Region Growing）法进行图像分割。由于胚的灰度值与胚乳中的灰度值有重合，因此，在3D全序列切片上，胚乳部分会影响到胚的分割。采用单张2D序列图，选择性跳跃生长的操作可较好获得胚的轮廓。在本研究中选择20张图像进行区域生长，然后利用闭（close）操作实现胚的完整分割（如图1步骤D）。

（2）空腔结构分割。空腔位于籽粒内部，根据其分布位置不同，空腔可详细划分为胚空腔、胚乳空腔和皮下空腔。空腔部分与其它结构一方面灰度值差距明显，另一方面与其他结构独立不连通。根据其结构上独立不连通这一特性，使用Region growing在当前活动mode上操作，分割得到胚空腔的完整结构，胚乳空腔和皮下空腔分割过程同上。在获得胚空腔、胚乳空腔、皮下空腔完整结构后，将三者的mode相加得到总空腔的完整结构。

（3）胚乳结构分割。在空腔和胚结构都获得的情况下，直接利用完整籽粒的mode减去空腔和胚的部分即可得到胚乳部分（含种皮），之后利用腐蚀（erode）操作去除种皮部分。

（4）三维表型指标计算。通过以上步骤（1）～（3）可实现对玉米籽粒内部三维结构的分割，精细分割出胚、胚乳、空腔、皮下空腔、胚乳空腔和胚空腔等不同的组织（如图1步骤E），进一步对各个成分进行计算即可获得相关表

型指标，包括体积（Volume，mm³）、表面积（Surface Area，mm²）、原始灰度均值（Mean Greyscale（Original））、体积比和比表面积等（如图1步骤F）。

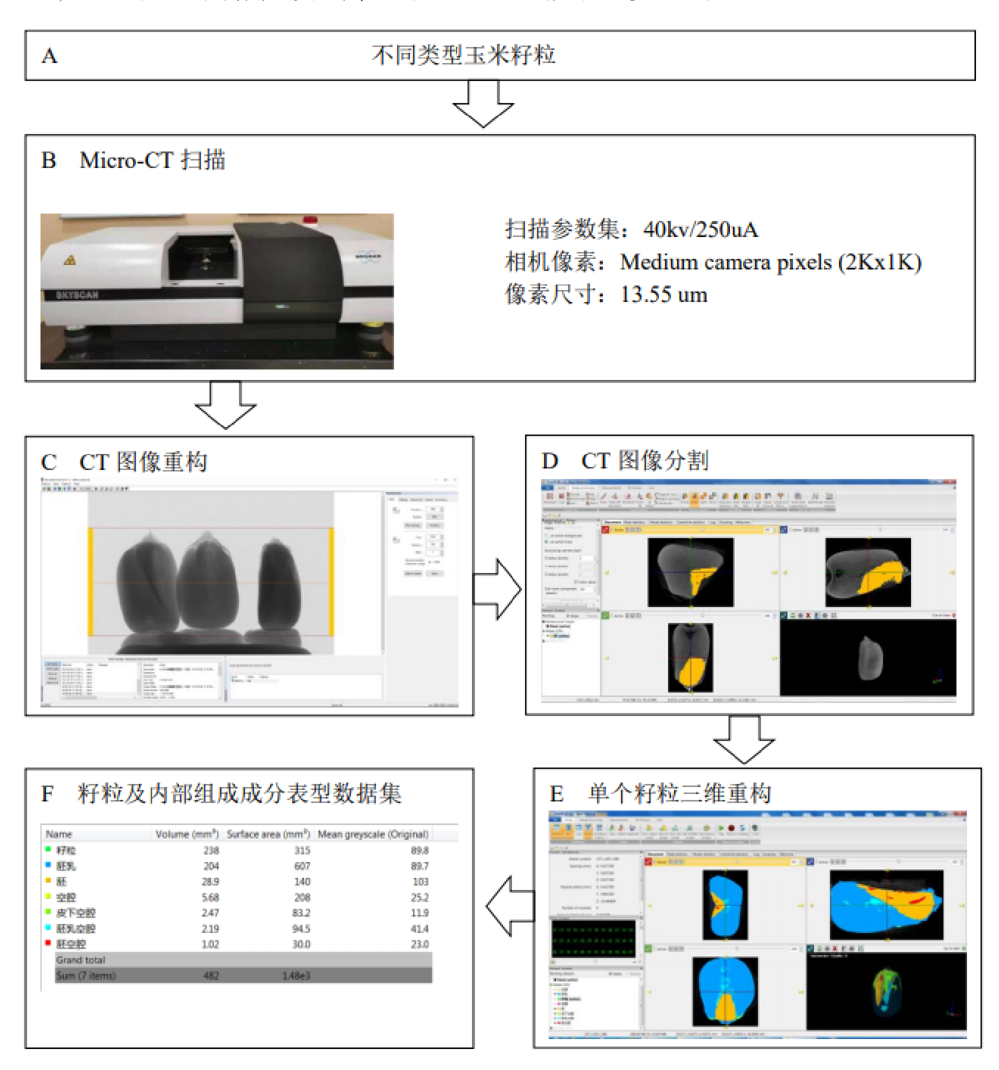


图1 基于Micro-CT获取表型数据流程

Fig. 1 Maize kernel micro-phenotype data obtaining processes using Micro-CT

2.5 数据分析

使用R语言自带的cor( )函数计算不同类型玉米籽粒表型指标间的相关系数，并利用corrplot包绘制相关性热图；采用单因素方差分析和灵敏度较高的最小显著差法（Least Significant Difference，LSD）在$P<0.05$水平比较不同类型玉米籽粒间的表型差异显著性；基于34项玉米籽粒显微表型指标，使用R语言cluster包pam( )函数进行K-中心点（K-Medoids）聚类分析。

3 结果与分析

3.1 玉米籽粒组织结构三维可视化及表型解析

基于CT序列图像，使用CT-分析器（CT-Analyser，CTAN）和CT-体积（CT-Volume，CT-VOL）对获得的3D图像进行渲染，可实现样品内部结构的定性分析，确定其内部不同结构的特征，以及不同品种之间在内部结构上的差异。如图2所示，展示了不同类型不同品种籽粒结构的

三视图：x-y平面（横轴视图），x-z平面（冠状视图）和z-y平面（旋转矢状视图）。结合ScanIP软件实现了对玉米籽粒内部三维结构的精细分割，包括胚、胚乳、空腔、皮下空腔、胚乳空腔和胚空腔等6个不同的组织，进一步对各个成分进行计算，获得包括体积、表面积、原始灰度均值、体积比和比表面积等34项玉米籽粒显微表型指标，如表1所示。

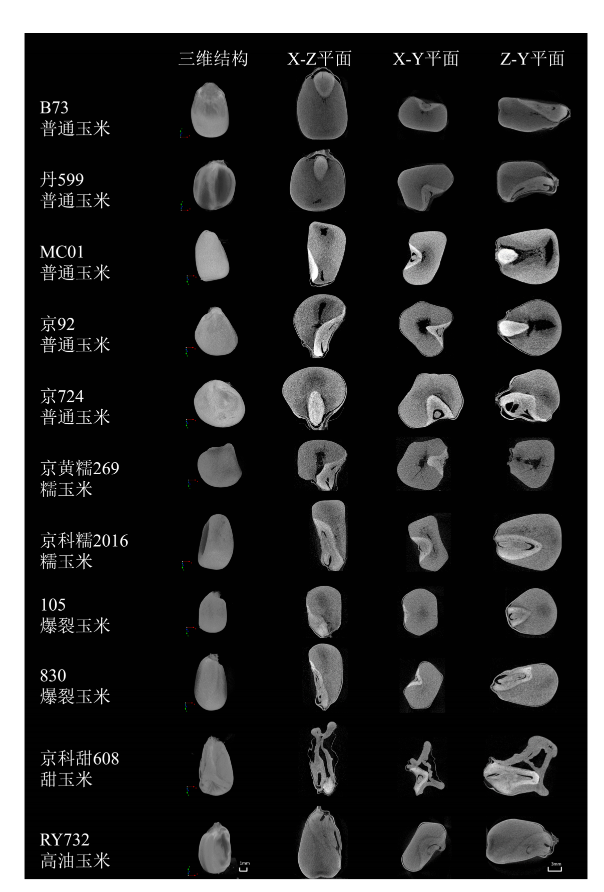
3.2 籽粒表型性状相关性分析

为探究不同类型玉米籽粒表型指标之间的关系，对34项显微表型指标两两变量进行相关分析。结果发现，籽粒与胚乳在表面积、体积等表型指标上呈极显著正相关关系，相关系数r>0.94（图3），表明胚乳是构成籽粒的主要组成部分，符合胚乳约占玉米籽粒80%以上的结论；空腔、

表1 玉米籽粒表型指标集

Table 1 Phenotypic traits set of maize kernels

序号	表型指标	定义	简写	公式	
1	籽粒体积	整个籽粒3D图像的体积	Vk	—	
2	胚乳体积	3D图像胚乳的体积	Vend	—	
3	胚体积	3D图像胚的体积	Vemb	—	
4	空腔体积	3D图像空腔的体积	Vcav	—	
5	皮下空腔体积	3D图像皮下空腔的体积	Vsubc	—	
6	胚乳空腔体积	3D图像胚乳空腔的体积	Vendc	—	
7	胚空腔体积	3D图像胚空腔的体积	Vembc	—	
8	籽粒表面积	整个籽粒3D图像的表面积	Sk	—	
9	胚乳表面积	3D图像胚乳的表面积	Send	—	
10	胚表面积	3D图像胚的表面积	Semb	—	
11	空腔表面积	3D图像空腔的表面积	Scav	—	
12	皮下空腔表面积	3D图像皮下空腔的表面积	Ssubc	—	
13	胚乳空腔表面积	3D图像胚乳空腔的表面积	Sendc	—	
14	胚空腔表面积	3D图像胚空腔的表面积	Sembc	—	
15	籽粒比表面积	整个籽粒表面积与体积之比	SVk	SVk=Sk/Vk	（1）
16	胚乳比表面积	3D图像胚乳表面积与体积之比	SVend	SVend=Send/Vend	（2）
17	胚比表面积	3D图像胚表面积与体积之比	SVemb	SVemb=Semb/Vemb	（3）
18	空腔比表面积	3D图像空腔表面积与体积之比	SVcav	SVcav=Scav/Vcav	（4）
19	皮下空腔比表面积	3D图像皮下空腔表面积与体积之比	SVsubc	SVsubc=Ssubc/Vsubc	（5）
20	胚乳空腔比表面积	3D图像胚乳空腔表面积与体积之比	SVendc	SVendc=Sendc/Vendc	（6）
21	胚空腔比表面积	3D图像胚空腔表面积与体积之比	SVembc	SVembc=Sembc/Vembc	（7）
22	胚乳体积比	胚乳与整个籽粒体积之比	VVend	VVend=Vend/Vk	（8）
23	胚体积比	胚与整个籽粒体积之比	VVemb	VVemb=Vemb/Vk	（9）
24	空腔体积比	空腔与整个籽粒体积之比	VVcav	VVcav=Vcav/Vk	（10）
25	皮下空腔体积比	皮下空腔与整个籽粒体积之比	VVsubc	VVsubc=Vsubc/Vk	（11）
26	胚乳空腔体积比	胚乳空腔与整个籽粒体积之比	VVendc	VVendc=Vendc/Vk	（12）
27	胚空腔体积比	胚空腔与整个籽粒体积之比	VVembc	VVembc=Vembc/Vk	（13）
28	籽粒原始灰度均值	整个籽粒3D图像原始灰度平均值	MGk		
29	胚乳原始灰度均值	3D图像胚乳原始灰度平均值	MGend		
30	胚原始灰度均值	3D图像胚原始灰度平均值	MGemb		
31	空腔原始灰度均值	3D图像空腔原始灰度平均值	MGcav		
32	皮下空腔原始灰度均值	3D图像皮下空腔原始灰度平均值	MGsubc		
33	胚乳空腔原始灰度均值	3D图像胚乳空腔原始灰度平均值	MGendc		
34	胚空腔原始灰度均值	3D图像胚空腔原始灰度平均值	MGembc		



注:三维结构图像标尺为1 mm,二维切片图像标尺为3 mm

图2 5种类型11个品种玉米籽粒的三维重构图和沿着3个维度的二维断面切片图像

Fig. 2 Three-dimensional reconstruction of maize seeds of 5 types and 11 varieties, and their two-dimensional sectional images were taken along three dimensions respectively

皮下空腔和胚乳空腔三者的体积和体积比两两之间相关系数r均大于0.8，呈极显著正相关，表明空腔大小主要受皮下空腔和胚乳空腔大小影响。

此外，本研究提取到一个能反应籽粒不同结构组织密度的指标Mean Greyscale（Original）。greyscale表示灰度，取值范围为0～255，0为黑色，255为白色[27]。其中致密物质为白色，空气为黑色[28]。籽粒不同组织结构原始灰度均值相关性分析显示，胚、胚乳和籽粒两两之间相关系数r均大于0.90，且灰度值相近，说明籽粒与胚乳、胚的组织密度相似，籽粒密度与其内部胚乳、胚组织显著相关。

3.3 籽粒表型性状差异分析

为探索同一表型指标在不同类型籽粒间的关系，利用R语言对表型指标进行单因素方差分析和LSD检验。本次试验单因素方差分析主要对籽粒整体、籽粒内部结构以及原始灰度均值进行分析。

3.3.1 籽粒整体组间差异分析

对11个品种玉米籽粒的体积大小进行排序发现，京92、B73、京724等普通玉米籽粒体积明显大于甜玉米京科甜608、高油玉米RY732、爆裂玉米105和830。其中普通玉米京92体积最大，为251.67 mm³，与特种玉米（糯玉米、爆裂玉米、高油玉米和甜玉米）具有显著差异（$P<0.05$）（表2）。但是普通玉米籽粒体积与糯玉米无法区分（表2），可能是由于糯玉米与普通玉米在籽粒大小外观表型相似的原因。

比表面积是指整个籽粒表面积与体积之比，也是衡量籽粒形态的重要指标。由表2可知，11个品种籽粒比表面积大小排序为京科甜608 > RY732 > 105 > 京科糯2016 > 京黄糯269 > 830 > 丹599 > B73> MC01 > 京724 > 京92，表明特种玉米籽粒比表面积普遍大于普通玉米籽粒比表面积。例如，比表面积最大为甜玉米京科甜608（2.59），与其他籽粒具有显著差异，而比表面积最小的特种玉米为830（1.49），其比表面积比普通玉米中比表面积最大的丹599（1.43）还大。

以上研究结果表明，基于籽粒体积和籽粒比表面积能实现对特种玉米和普通玉米籽粒的区分。

3.3.2 籽粒内部结构在不同类型籽粒间的差异分析

为进一步对比籽粒内部结构在不同类型籽粒间的差异，本研究对胚、胚乳、空腔、皮下空腔、胚乳空腔以及胚空腔的表型指标进行单因素方差分析。如表3所示，在胚乳体积中排列前5的玉米籽粒中有4个为普通玉米，如京92、B73、京724和MC01，其中京92胚乳体积最大，为210.67 mm³。特种玉米中爆裂玉米105、高油玉

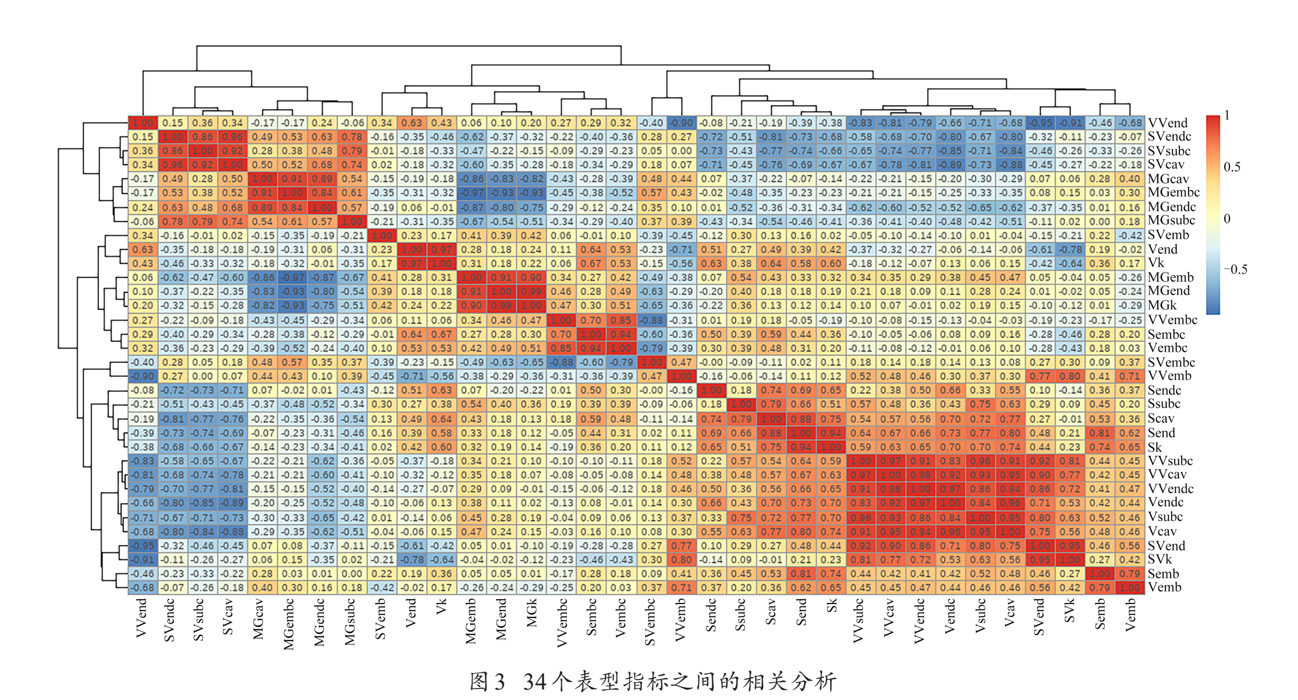


图3　34个表型指标之间的相关分析

Fig. 3　Correlation analysis of 34 phenotypic parameters

表2　籽粒整体组间差异统计分析

Table 2　Statistical analysis of phenotypic difference between group of kernels

品种	类型	籽粒表面积/mm²	籽粒体积/mm³	籽粒比表面积
B73	普通玉米	310.67±3.08b	225.67±3.62b	1.38±1.38de
丹599	普通玉米	266.33±4.64c	186.67±4.57cd	1.43±1.43de
京724	普通玉米	301.67±7.07b	224.67±5.71b	1.34±1.34e
京92	普通玉米	334.67±4.77a	251.67±3.82a	1.33±1.33e
MC01	普通玉米	278.67±1.26c	203.33±1.22cd	1.37±1.37de
京黄糯269	糯玉米	308.00±1.88b	207.00±5.75bc	1.50±1.50cd
京科糯2016	糯玉米	302.00±1.38b	201.67±1.22cd	1.50±1.50cd
105	爆裂玉米	187.33±3.20e	116.00±2.68f	1.62±1.62bc
830	爆裂玉米	275.33±4.10c	185.00±2.58d	1.49±1.49cd
RY732	高油玉米	221.00±3.32d	128.00±2.63ef	1.73±1.73b
京科甜608	甜玉米	357.33±5.73a	138.33±3.02e	2.59±2.59a

注：同一指标不同小写字母表示在0.05水平差异显著

米RY732和甜玉米京科甜608的胚乳体积明显小于普通玉米，其中京科甜608胚乳体积最小，为83.7 mm³。若按不同品种玉米籽粒胚乳空腔表面积由大到小进行排序，11个玉米籽粒中5个普通玉米排列在前七位，分别为丹599，京724，B73，MC01，京92，胚乳空腔表面积在88.73～132.40 mm²之间，显著高于其它类型玉米籽粒空腔表面积4.79～54.24 mm²（表4）。相反，若按胚体积比分类，除丹599，所有普通玉米籽粒胚体积比为9～15，普遍较小，明显小于其它类型玉米籽粒，如甜玉米京科甜608（胚体积比为25.19）以及高油玉米RY732（胚体积比为24.11）（表5）。以上分析表明，胚乳体积、胚乳空腔表面积以及胚体积比等显微表型指标可用于区分普通玉米和特种玉米（爆裂、高油及甜玉米等）。

由胚乳体积比差异分析结果可知，爆裂玉米105和830胚乳体积比值在所有玉米类型中排列前二，且比值均大于87（表5），表明爆裂类型玉米籽粒相较其它类型玉米籽粒胚乳体积占籽粒体积比较大。此外，根据差异分析结果发现，胚乳空腔比表面积表型指标可用于区分高油玉米RY732和甜玉米京科甜608。高油玉米RY732胚乳空腔比表面积最大，为97.44；相反甜玉米京科甜608胚乳空腔比表面积最小，为11.06，且与其他类型籽粒差异显著（表6）。通过差异分析还发现，胚乳空腔体积比大小也可用于高油玉米RY732和甜玉米京科甜608的区分。甜玉米京科甜608胚乳空腔体积比最大，为7.33，高油玉米RY732最小，为0.05，其中甜玉米京科甜608显著区别于其它类型玉米籽粒胚乳空腔体积比（表5）。

表3 籽粒内部结构体积组间差异统计分析

Table 3 Statistical analysis on the difference of internal structure's volume among groups of maize kernels

品种	类型	胚	胚乳	空腔	皮下空腔	胚乳空腔	胚空腔
B73	普通玉米	27.73±0.53bc	193±3.18b	5.21±0.14de	2.18±0.28bc	2.46±0.19bc	0.56±0.12de
丹599	普通玉米	27.87±0.95bc	154.33±2.79e	5.22±0.75de	0.43±0.01c	3.73±0.77bc	1.05±0.04bc
京724	普通玉米	21.27±1.21e	188±5.07bc	12.03±0.63b	4.32±0.37bc	6.79±0.38ab	0.54±0.07de
京92	普通玉米	30.83±0.31ab	210.67±3.82a	10.37±0.38bc	5.3±0.48ab	3.31±0.32bc	1.88±0.17a
MC01	普通玉米	22.63±0.15de	173.00±1.57cd	7.60±0.23cd	1.88±0.1bc	4.07±0.25bc	1.40±0.07b
京黄糯269	糯玉米	26.67±1.40bcd	172.67±4.22cd	7.73±0.57bcd	2.18±0.18bc	4.60±0.61bc	0.95±0.04cd
京科糯2016	糯玉米	26.07±0.68cd	174.33±1.06cd	1.88±0.24ef	0.01±0.00c	1.17±0.27c	0.70±0.03cde
105	爆裂玉米	11.93±0.61f	101.80±1.98f	2.01±0.35ef	1.02±0.32bc	0.20±0.07c	0.78±0.04cde
830	爆裂玉米	20.6±0.16e	161.67±2.30de	2.67±0.23ef	1.36±0.13bc	0.61±0.18c	0.70±0.03cde
RY732	高油玉米	30.87±0.79ab	95.90±1.87fg	0.87±0.08f	0.45±0.04c	0.06±0.03c	0.37±0.03e
京科甜608	甜玉米	34.70±0.15a	83.70±1.28g	20.25±2.18a	9.43±2.64a	10.32±2.47a	0.49±0.05e

注：同一指标不同小写字母表示在0.05水平差异显著

表4 籽粒内部结构表面积组间差异统计分析

Table4 Statistical analysis on the difference of internal structure's surface among groups of maize kernels

品种	类型	胚	胚乳	空腔	皮下空腔	胚乳空腔	胚空腔
B73	普通玉米	153.67±3.60abc	641.00±19.61b	210.47±12.28bcd	81.10±3.35cde	106.17±14.20ab	23.20±2.45bcd
丹599	普通玉米	153.67±2.34abc	558.67±16.91bc	187.6±22.28bcd	24.53±2.23ef	132.40±19.86a	30.67±0.62b
京724	普通玉米	142.67±8.51bc	628.67±22.57b	254.33±6.84ab	139.00±12.35b	111.73±7.98ab	22.43±2.61bcd
京92	普通玉米	203.00±20.54a	765.00±38.5a	311.00±7.70a	216.67±5.27a	88.73±9.13ab	42.97±3.88a
MC01	普通玉米	134.67±5.40c	563.67±14.00bc	179.00±7.84cd	53.77±2.75def	90.00±3.77ab	30.03±0.70bc
京黄糯269	糯玉米	188.67±0.92abc	674.00±7.61ab	207.43±9.03bcd	49.83±1.04def	127.67±9.41a	29.93±0.39bc
京科糯2016	糯玉米	141.67±2.26c	498.67±10.45cd	80.1±9.99ef	0.90±0.11f	54.24±11.94bc	24.87±2.11bcd
105	爆裂玉米	75.87±1.33d	333.67±23.59e	91.87±19.89ef	62.63±18.94de	7.82±1.90c	21.43±1.43bcd
830	爆裂玉米	183.00±23.18abc	582.00±24.59bc	136.83±9.66de	91.00±4.89bcd	26.40±7.62c	19.43±0.38cd
RY732	高油玉米	162.67±1.55abc	411.00±8.16de	57.19±6.22f	35.20±2.92def	4.79±2.18c	17.2±1.60d
京科甜608	甜玉米	199.33±6.2ab	782.00±23.55a	244.80±20.87abc	132.13±23.48bc	93.17±14.01ab	19.5±1.97cd

注：同一指标不同小写字母表示在0.05水平差异显著

表5 籽粒内部结构体积比组间差异统计分析

Table 5 Statistical analysis on the difference of internal structure's volume ratio among groups of maize kernels

品种	类型	胚	胚乳	空腔	皮下空腔	胚乳空腔	胚空腔
B73	普通玉米	12.29±0.11cd	85.52±0.06abc	2.31±0.05cde	0.97±0.13b	1.09±0.08bc	0.24±0.05c
丹599	普通玉米	14.91±0.20b	82.77±0.57d	2.74±0.32cde	0.23±0.00b	1.94±0.35bc	0.57±0.03ab
京724	普通玉米	9.41±0.32e	83.68±0.73cd	5.44±0.44b	1.96±0.22b	3.07±0.25b	0.25±0.04c
京92	普通玉米	12.27±0.17cd	83.68±0.24cd	4.14±0.19bc	2.13±0.22b	1.32±0.14bc	0.75±0.08a
MC01	普通玉米	11.14±0.12de	85.07±0.26bcd	3.74±0.12bcd	0.92±0.05b	2.00±0.12bc	0.69±0.04a
京黄糯269	糯玉米	12.84±0.39cd	83.47±0.29cd	3.72±0.24bcd	1.08±0.11b	2.19±0.27bc	0.46±0.01bc
京科糯2016	糯玉米	12.92±0.32c	86.45±0.31ab	0.93±0.11e	0.01±.000b	0.57±0.13bc	0.35±0.02c
105	爆裂玉米	10.25±0.32e	87.81±0.33a	1.72±0.28cde	0.87±0.27b	0.17±0.06bc	0.68±0.04a
830	爆裂玉米	11.14±0.1de	87.39±0.11ab	1.43±0.11de	0.73±0.06b	0.33±0.1bc	0.38±0.01bc
RY732	高油玉米	24.11±0.3a	74.94±0.24e	0.68±0.05e	0.35±0.02b	0.05±0.02c	0.29±0.02c

续表5

京科甜608	甜玉米	25.19±0.66a	60.6±0.75f	14.44±1.32a	6.76±1.89a	7.33±1.63a	0.35±0.03c

注：同一指标不同小写字母表示在0.05水平差异显著

表6 籽粒内部结构比表面积组间差异统计分析

Table 6 Statistical analysis on the difference of internal structure's specific surface area among groups of maize kernels

品种	类型	胚	胚乳	空腔	皮下空腔	胚乳空腔	胚空腔
B73	普通玉米	5.57±0.20b	3.33±0.11cd	40.92±3.27bcd	41.79±4.93cd	41.84±2.59bc	48.9±5.12a
丹599	普通玉米	5.55±0.14b	3.62±0.1bcd	37.54±3.93cde	56.19±4.53bc	38.81±5.04bcd	29.49±1.22cde
京724	普通玉米	6.76±0.29ab	3.34±0.06cd	21.55±1.20fg	34.47±4.19de	17.04±1.93cd	41.94±2.43abc
京92	普通玉米	6.54±0.6ab	3.63±0.18bc	30.46±1.75def	43.51±3.99cd	27.63±2.66bcd	23.83±2.15de
MC01	普通玉米	5.95±0.23b	3.27±0.11cd	23.62±1.08fg	28.66±0.02de	23.13±2.38bcd	21.58±0.54e
京黄糯269	糯玉米	7.21±0.35ab	3.91±0.06bc	27.60±1.61ef	24.00±1.90e	31.27±3.74bcd	31.96±1.05cde
京科糯2016	糯玉米	5.45±0.10b	2.86±0.05d	43.28±2.07bc	71.22±3.70ab	53.15±4.40b	35.09±1.19bcd
105	爆裂玉米	6.45±0.26b	3.28±0.22cd	43.49±1.91bc	63.11±0.86ab	52.38±6.00b	27.67±1.45de
830	爆裂玉米	8.87±1.09a	3.61±0.17bcd	51.86±1.29b	68.68±2.55ab	50.94±5.26b	28.05±1.03de
RY732	高油玉米	5.29±0.10b	4.29±0.02b	64.81±1.01a	79.38±1.72a	97.44±13.38a	46.59±0.84ab
京科甜608	甜玉米	5.75±0.18b	9.34±0.24a	12.38±0.37g	17.12±1.69e	11.06±1.20d	40.71±3.1abc

注：同一指标不同小写字母表示在0.05水平差异显著

3.4 原始灰度均值的差异分析

本研究还对原始灰度均值进行差异分析。从表7可知，在11个品种玉米籽粒中，空腔组织结构胚空腔、胚乳空腔、皮下空腔原始灰度均值都低于50；非空腔组织结构胚、胚乳、籽粒原始灰度平均值均高于80，且籽粒空腔与非空腔灰度值差异显著。表明原始灰度均值能区分籽粒空腔与非空腔组织结构，可作为籽粒空腔与非空腔组织结构划分的重要表型指标。

表7 原始灰度均值组间差异统计分析

Table 7 Statistical analysis of phenotypic differences among groups of Mean greyscale（Original）

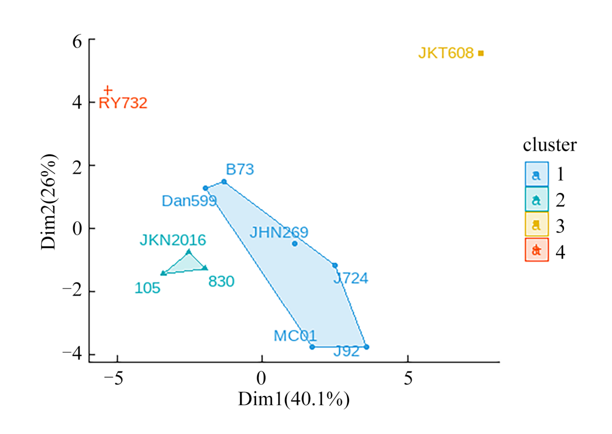
品种	类型	籽粒	胚	胚乳	空腔	皮下空腔	胚乳空腔	胚空腔
B73	普通玉米	89.87±0.27h	106.00±0.80f	89.30±0.38h	75.78±0.61a	10.51±0.37bc	37.00±1.39a	28.27±1.40a
丹599	普通玉米	87.07±0.82h	98.87±1.88f	86.63±0.53h	83.48±3.64a	16.55±1.93ab	38.03±1.20a	28.90±0.94a
京724	普通玉米	118.67±0.76de	189.33±4.16ab	117.67±0.97de	16.20±1.99d	11.70±3.45bc	16.81±3.09bc	6.60±0.68c
京92	普通玉米	134.67±0.17b	179.67±0.97b	133.33±0.46b	15.67±0.46d	11.75±1.27bc	17.81±3.15bc	5.05±0.58c
MC01	普通玉米	142.67±0.92a	196.00±0.52a	141.67±0.92a	12.56±0.80d	4.58±0.31c	17.97±2.34bc	2.92±0.24c
京黄糯269	糯玉米	110.67±0.46f	144.33±0.76e	109.33±0.35f	52.96±0.43b	10.50±0.18bc	27.20±0.56ab	15.27±0.47b
京科糯2016	糯玉米	122.67±0.35d	144.33±2.53e	120.33±0.17d	20.00±2.72d	16.00±0.91ab	22.60±3.10bc	14.37±1.08b
105	爆裂玉米	118.33±0.46e	149.00±2.61de	117.00±0.30e	13.40±0.54d	12.38±0.87bc	18.70±2.27bc	13.23±0.52b
830	爆裂玉米	128.33±0.17c	159.67±1.66cd	126.33±0.17c	55.50±3.71b	13.30±1.59ab	26.90±2.08ab	15.30±0.82b
RY732	高油玉米	99.60±0.47g	103.67±0.46f	98.73±0.45g	84.57±1.46a	21.03±0.39a	37.03±1.98a	26.50±0.13a
京科甜608	甜玉米	113.33±1.77f	161.33±1.06c	118.33±0.92de	37.17±1.11c	9.97±0.51bc	11.40±0.68c	15.80±1.20b

注：同一指标不同小写字母表示在0.05水平差异显著

3.5 表型指标聚类分析

使用R语言cluster包pam( )函数对34项显微表型指标进行K-Medoids聚类分析，结果如图4所示。图中不同颜色和形状划分的多边形代表不同的分类组，11种籽粒可被划分为四类。第一类：京724、MC01、京黄糯269、B73、丹599、京92（蓝色）；第二类：京科糯2016、105、830（绿色）；第三类：京科甜608（黄色）；第四类：RY732（红色）。

在分类的基础上，对四类籽粒做不同表型指标的单因素方差分析，结果如表8所示。其中，



注：Dim1（维度1）为主成分1，Dim2（维度2）为主成分2，cluster代表分类序号，数目代表各组成份数。Dan599为丹599，J92为京92，J724为京724，JHN269为京黄糯269，JKN2016为京科糯2016

图4 基于34个表型指标的玉米籽粒分类图

Fig.4 Classification of maize kernels based on 34 phenotypic parameters

胚乳体积（Vend）、籽粒体积（Vk）、胚乳空腔表面积（Sendc）、胚空腔表面积（Sembc）、籽粒比表面积（SVk）、胚乳空腔比表面积（SVendc）、胚体积比（VVemb）和胚乳体积比（VVend）等8个表型指标在不同类型玉米籽粒中存在显著差异（P-value<0.05）。

为进一步确定上述存在显著差异的8个表型指标对不同分类组的影响程度，基于这8项表型指标和四类玉米籽粒类型进行LSD，结果表明，胚空腔表面积在4类玉米籽粒中不存在显著差异（表9），不适用于籽粒区分。因此，本研究使用除胚空腔表面积外的7个表型指标对不同类型玉米籽粒进行分类。

结合表型指标在不同分类组的均值大小，每一类的主要特征为：第一类籽粒胚乳空腔表面积、胚乳体积和籽粒体积最大，其中籽粒体积与其余三类籽粒体积具有显著差异；第二类籽粒胚乳体积比最大，但与第一类和第四类在P-value<0.05水平上无显著差异，胚体积比最小，但与第一类在P-value<0.05水平上无显著差异；第三类籽粒胚乳体积、胚乳空腔比表面积和胚乳体积比最小，籽粒比表面积和胚体积比最大；第四类籽粒胚乳空腔表面积和籽粒体积最小，胚乳空腔比表面积最大。

4 结论与讨论

本研究以普通玉米、糯玉米、爆裂玉米、高

表8 34个表型指标在4类籽粒间方差分析结果

Table 8 Variance analysis results of 34 phenotypic indexes in four types of kernels

表型指标	Sembc	Sendc	Ssubc	Scav	Semb	Send	Sk	Vembc	Vendc	Vsubc
P-value	0.030 *	0.0176 *	0.56900	0.06830	0.857	0.3030	0.382	0.0657	0.685	0.850
表型指标	Vcav	Vemb	Vend	Vk	SVembc	SVendc	SVsubc	SVcav	SVembryo	SVend
P-value	0.781	0.4470	0.00221 **	0.00486 **	0.202	0.0435 *	0.185	0.1590	0.516	0.123
表型指标	SVk	VVcav	VVembc	VVemb	VVendc	VVend	VVsubc	MGca	MGembc	MGemb
P-value	0.0255 *	0.7070	0.28700	0.00319 **	0.857	0.0499 *	0.479	0.4370	0.345	0.381
表型指标	MGendc	MGend	MGk	MGsubc						
P-value	0.884	0.7520	0.66900	0.07090						

注：0 ‘***’, 0.001 ‘**’, 0.01 ‘*’, 0.05 ‘.’, 0.1 ‘ ’, 1

表9 存在显著差异的8个表型指标LSD检验

Table 9 LSD test results of 8 phenotypic parameters with significant difference

分类组	Sembc	Sendc	Vend	Vk	Svendc	SVk	VVemb	VVend
第1类	0.58a	0.71a	0.63a	0.66a	−0.44b	0.50b	−0.39b	0.27a
第2类	−0.50a	−1.02b	−0.22ab	−0.47b	0.50ab	−0.10b	−0.52b	0.67a
第3类	−0.83a	0.36ab	−1.69b	−1.14b	−1.24b	2.84a	2.05a	−2.71b
第4类	−1.14a	1.56b	−1.40b	−1.38b	2.40a	0.44ab	1.84a	0.89ab

注：同一指标不同小写字母表示在0.05水平差异显著

油玉米和甜玉米5种类型的11个品种玉米籽粒为研究对象，基于Micro-CT开展籽粒表型显微特征研究，主要结论有：

（1）利用CT扫描技术实现玉米籽粒、胚、胚乳、空腔、皮下空腔、胚乳空腔和胚空腔等7个组织结构的三维分割及34项表型指标的精准提取。

（2）34项表型指标中，胚乳空腔表面积、籽粒体积、胚乳体积比和胚乳空腔比表面积等4项表型指标在不同类型玉米间差异显著（P-value<0.05）。其中，普通玉米胚乳空腔表面积和籽粒体积显著大于其他类型玉米籽粒，爆裂玉米胚乳体积比最大，高油玉米胚乳空腔比表面积最大，甜玉米胚乳空腔比表面积最小。

（3）基于34项表型指标进行差异分析和聚类分析，可将11个不同品种玉米籽粒分为四类。第一类：京724、MC01、京黄糯269、B73、丹599、京92；第二类： 105、830、京科糯2016；第三类：京科甜608；第四类：RY732。此分类结果与实际玉米类型基本吻合，表明Micro-CT扫描技术可以为不同品种玉米籽粒分类提供支持。

由于糯玉米同普通玉米相比较，两者主要区别在于内部组织生化成分不同，而在外形结构上无差异[29]，所以在进行表型数据聚类时，京黄糯269被划分在普通玉米中。在特种玉米中，甜玉米京科甜608胚乳空腔比表面积与其它类型玉米籽粒相比，其胚乳空腔比表面积最小，差异显著（表6）。相反，高油玉米籽粒RY732胚乳空腔比表面积在所有玉米籽粒中最大且差异显著（表6），说明胚乳空腔比表面积表型指标可用于区分甜玉米和高油玉米。该结果与聚类分析结果一致，高油玉米RY732与甜玉米京科甜608被分别单独划分为一类（图4）。爆裂玉米105和830胚乳体积比值均大于其他类型玉米（表5），且聚类分析后存在显著差异的8个表型指标LSD检验发现，主要由爆裂玉米构成的第二类其胚乳体积比也大于其他三类（表9），表明胚乳体积比可作为爆裂玉米同其它类型玉米区分的重要依据。同样地，在区分普通玉米和特种玉米中，籽粒表型指标如籽粒体积、胚乳空腔表面积在种间差异较大，可用于区分普通玉米与特种玉米。例如，分别对胚乳空腔表面积、籽粒体积进行单因素方差分析，并对胚乳空腔表面积、籽粒体积大小排序。结果显示在11个籽粒中，排名前50%的玉米籽粒均为普通玉米（表4和表3），且该结果与聚类分析结果类似。在聚类分析中，普通玉米被划分为第一类，明显区分于其它三类特种玉米（图4）。差异分析结果和聚类分析结果均发现胚乳空腔表面积、籽粒体积、胚乳体积比和胚乳空腔比表面积这四项指标在不同类型玉米籽粒间存在显著差异，为不同类型玉米籽粒分类提供重要的参考依据。

现有的CT图像分割流程涉及大量的人工交互耗时长、效率低，无法满足高通量的玉米籽粒显微表型特征获取。今后，如何提升显微表型获取的效率与精度，开展大群体籽粒显微特征研究，将成为下一步工作的研究重点。

致 谢

感谢北京市农林科学院玉米中心段民孝副研究员和赵衍鑫副研究员提供部分玉米品种种子。

参考文献：

[1] WALLACE J G, RODGERS-MELNICK E, BUCKLER E S. On the road to breeding 4.0: Unraveling the good, the bad, and the boring of crop quantitative genomics[J]. Annual Review of Genetics, 2018, 52: 421-444.

[2] 赵春江. 植物表型组学大数据及其研究进展[J]. 农业大数据学报, 2019, 1(2): 5-18.
ZHAO C. Big data of plant phenomics and its research progress[J]. Journal of Agricultrual Big Data, 2019, 1(2): 5-18.
[3] 潘映红. 论植物表型组和植物表型组学的概念与范畴[J]. 作物学报, 2015, 41(2): 175-186.
PAN Y. Analysis of concepts and categories of plant phenome and phenomics[J]. Acta Agronomica Sinica, 2015, 41(2): 175-186.
[4] 穆金虎, 陈玉泽, 冯慧, 等. 作物育种学领域新的革命:高通量的表型组学时代[J]. 植物科学学报, 2016, 34(6): 962-971.
MU J, CHEN Y, FENG H, et al. A new revolution in crop breeding: The era of high-throughput phenomics[J]. Plant Science Journal, 2016, 34(6): 962-971.
[5] FREY T K, YOUNGNER J S. Novel phenotype of RNA synthesis expressed by vesicular stomatitis virus isolated from persistent infection[J]. Journal of Virology, 1982, 44(1): 167-174.
[6] VIZEACOUMAR F J, CHONG Y, BOONE C, et al. A picture is worth a thousand words: Genomics to phenomics in the yeast Saccharomyces cerevisiae[J]. FEBS letters, 2009, 583(11): 1656-1661.
[7] TARDIEU F, CABRERA-BOSQUET L, PRIDMORE T, et al. Plant phenomics, from sensors to knowledge[J]. Current Biology, 2017, 27(15): R770-R783.
[8] FURBANK R T, JIMENEZ-BERNI J A, GEORGE-JAEGGLI B, et al. Field crop phenomics: Enabling breeding for radiation use efficiency and biomass in cereal crops[J]. New Phytologist, 2019, 223(4): 1714-1727.
[9] 玉光惠, 方宣钧. 表型组学的概念及植物表型组学的发展[J]. 分子植物育种, 2009, 7(4): 639-645.
YU G, FANG X. Concept of phenomics and its development in plant science[J]. Molecular Plant Breeding, 2009, 7(4): 639-645.
[10] ZHAO C, ZHANG Y, DU J, et al. Crop phenomics: Current status and perspectives[J]. Frontiers in Plant Science, 2019, 10: ID 714.
[11] DU Z, HU Y, BUTTAR NALI, et al. X-ray computed tomography for quality inspection of agricultural products: A review[J]. Food Science & Nutrition, 2019, 7(10): 3146-3160.
[12] 潘晓迪, 张颖, 邵萌, 等. 作物根系结构对干旱胁迫的适应性研究进展[J]. 中国农业科技导报, 2016, 19(2): 51-58.
PAN X, ZHANG Y, SHAO M, et al. Research progress on adaptive responses of crop root structure to drought stress[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2016, 19(2): 51-58.
[13] ZHANG Y, DU J, WANG J, et al. High-throughput micro-phenotyping measurements applied to assess stalk lodging in maize (*Zea mays* L.) [J]. Biological Research, 2018, 51: 40.
[14] PAN X, MA L, ZHANG Y, et al. Quantification of root anatomical traits in RGP transgenic maize plants based on Micro-CT[C]// International Conference on Computer and Computing Technologies in Agriculture. Berlin, Germany: Springer, Cham, 2017: 340-346.
[15] 刘晓涛. 玉米的营养成分及其保健作用[J]. 中国食物与营养, 2009(3): 60-61.
LIU X. Nutrition components of corn and its functions[J]. Food and Nutrition in China, 2009(3): 60-61.
[16] HALLAUER A R. Specialty corns[M]. Boca Raton: CRC press, 2000.
[17] 李竞雄. 美国玉米种质基础[J]. 国外农业科技, 1982(4): 1-7.
LI J. Germplasm basis of American maize[J]. Foreign Agricultural Science and Technology, 1982(4): 1-7.
[18] 史振声. 对我国专用特用玉米科研与产业开发问题的思考[J]. 玉米科学, 2004(3): 111-112, 115.
SHI Z. Thoughts on the scientific research and industrial development of special purpose corn in China[J]. Journal of Maize Sciences, 2004(3): 111-112, 115.
[19] 韩伟, 吕莹莹, 张萌, 等. 我国特用玉米生产现状与发展对策[J]. 安徽农业科学, 2017, 45(28): 39-41, 77.
HAN J, LYU Y, ZHANG M, et al. Production status and development countermeasures of special maize in China[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2017, 45(28): 39-41, 77.
[20] HOU J, ZHANG Y, JIN X, et al. Structural parameters for X-ray micro-computed tomography (μCT) and their relationship with the breakage rate of maize varieties[J]. Plant Methods, 2019, 15(1): 1-11.
[21] 吴建伟, 郭新宇, 王传宇, 等. 玉米育种自动考种仪[J]. 中国种业, 2013(9): 51-52.
WU J, GUO X, WANG C, et al. Automatic seed testing instrument for maize breeding[J]. China Seed Industry, 2013(9): 51-52.
[22] ZHANG Y, WANG J, DU J, et al. Dissecting the phenotypic components and genetic architecture of maize stem vascular bundles using high-throughput phenotypic analysis[J]. Plant Biotechnology Journal, 2021, 19(1): 35-50.
[23] ROUSSEAU D, WIDIEZ T, DI TOMMASO S, et al. Fast virtual histology using X-ray in-line phase tomography: Application to the 3D anatomy of maize devel-

oping seeds[J]. Plant Methods, 2015, 11(1): 1-10.
[24] GUELPA A, DU PLESSIS A, KIDD M, et al. Non-destructive estimation of maize (*Zea mays* L.) kernel hardness by means of an X-ray micro-computed tomography (μCT) density calibration[J]. Food and Bioprocess Technology, 2015, 8(7): 1419-1429.
[25] GUELPA A, DU PLESSIS A, MANLEY M. A high-throughput X-ray micro-computed tomography (μCT) approach for measuring single kernel maize (*Zea mays* L.) volumes and densities[J]. Journal of Cereal Science, 2016, 69: 321-328.
[26] SHAO M, ZHANG Y, DU J, et al. Fast analysis of maize kernel plumpness characteristics through Micro-CT technology[C]// International Conference on Computer and Computing Technologies in Agriculture. Berlin, Germany: Springer, Cham, 2017: 31-39.
[27] 张桂华, 冯艳波, 陆卫东 . 图像处理的灰度化及特征区域的获取[J]. 齐齐哈尔大学学报, 2007(4): 49-52.
ZHANG G, FENG Y, LU W. Image processing gray-scale and feature region acquisition[J]. Journal of Qiqihar University, 2007(4): 49-52.
[28] GUSTIN J L, JACKSON S, WILLIAMS C, et al. Analysis of maize (*Zea mays*) kernel density and volume using microcomputed tomography and single-kernel near-infrared spectroscopy[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(46): 10872-10880.
[29] 王义发, 汪黎明, 沈雪芳,等 . 糯玉米的起源、分类、品种改良及产业发展[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2007(S1): 97-102.
WANG Y, WANG L, SHEN X. et al. Orlgin classification, variety improvement and industry development of waxy corn[J]. Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences), 2007(S1): 97-102.

Study on the Micro-Phenotype of Different Types of Maize Kernels Based on Micro-CT

ZHAO Huan[1,2,3], WANG Jinglu[1,2], LIAO Shengjin[1,2], ZHANG Ying[1,2], LU Xianju[1,2], GUO Xinyu[1,2], ZHAO Chunjiang[1,2*]

(1. *Beijing Research Center for Information Technology*, *Beijing* 100097, *China*; 2. *National Engineering Research Center for Information Technology in Agriculture*/*Beijing Key Lab of Digital Plant*, *Beijing* 100097, *China*; 3. *College of Plant Science & Technology of Huazhong Agricultural University*, *Wuhan* 430070, *China*)

Abstract: Plant micro-phenotype mainly refers to the phenotypic information at the tissue, cell, and subcellular levels, which is an important part of plant phenomics research. In view of the problems of low efficiency, large error, and few traits of traditional methods for detecting kernel microscopic traits, Micro-CT scanning technology was used to carry out precise identification of micro-phenotype on 11 varieties of maize kernels. A total of 34 microscopic traits were obtained based on CT sequence images of 7 tissues, including seed, embryo, endosperm, cavity, subcutaneous cavity, endosperm cavity and embryo cavity. Among the 34 microscopic traits, 4 traits, including endosperm cavity surface area, kernel volume, endosperm volume ratio and endosperm cavity specific surface area, were significantly different among maize types (P-value<0.05). The surface area of endosperm cavity and kernel volume of common maize were significantly higher than those of other types of maize. The specific surface area of endosperm cavity of high oil maize was the largest. The endosperm cavity of sweet corn had the smallest specific surface area. The endosperm volume ration of popcorn was the largest. Furthermore, 34 traits were used for One-way ANOVA and cluster analysis, and 11 different maize varieties were divided into four categories, of which the first category was mainly common maize, the second category was mainly popcorn, the third category was sweet corn, and the fourth category was high oil maize. The results indicated that Micro-CT scanning technology could not only achieve precise identification of micro-phenotype of maize kernels, but also provide supports for kernel classification and variety detection, and so on.

Key words: plant phenomics; micro-phenotype; Micro-CT; maize kernel; phenotype identification